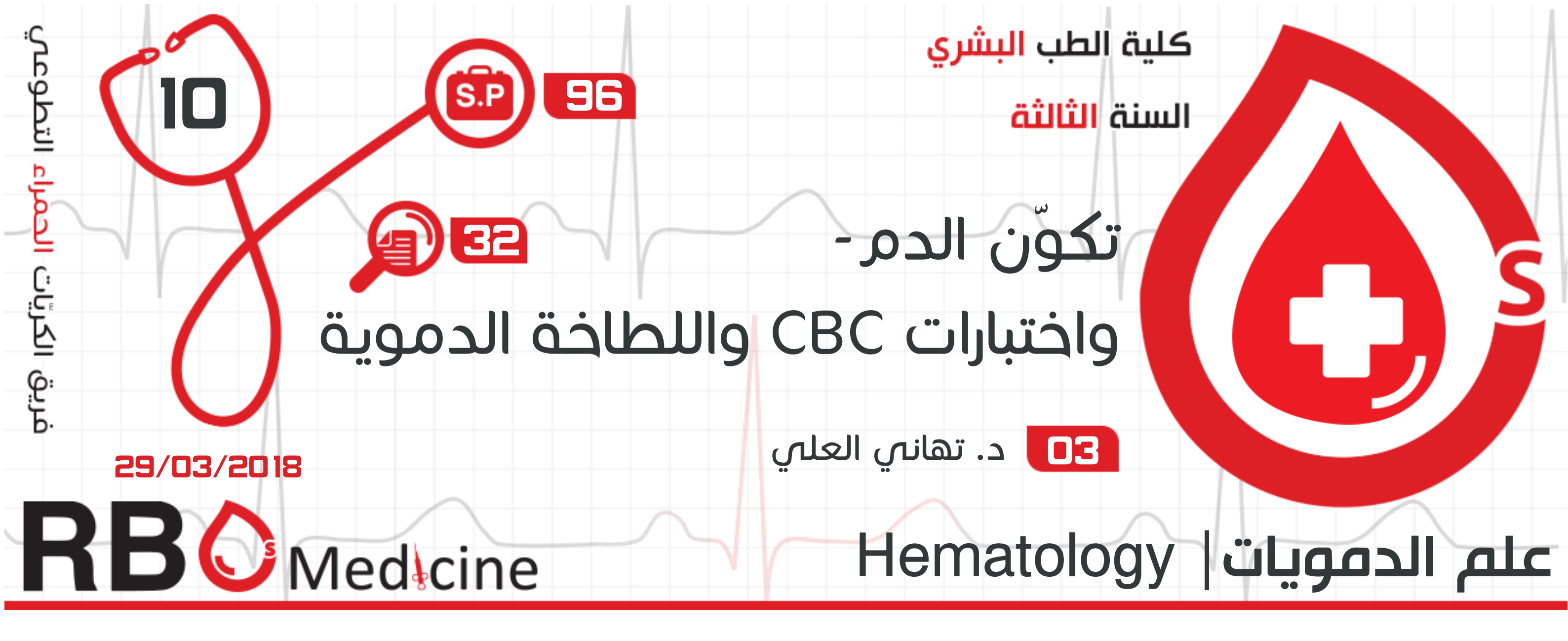


السلام عليكم *_*

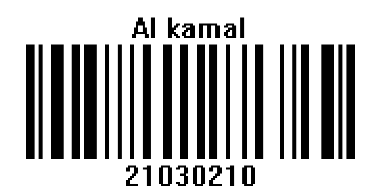
نرحب بكم أصدقاءنا من جديد في محاضرة مقسمة إلى جزأين حيث سنتناول في الأول عمليّة تكوّن الدم وسنتعرف من خلاله على Boss المسؤول عنها وهي الخلية الجذعيّة، وعلى ماذا تعتمد.

لننتقل في الجزء الثاني إلى المرحلة العمَلِيَّة من مادتنا لِنتعرف على اختبارين أساسيّن في عِلْمِ الدمويات وهو تعداد الدم CBC واللطخة الدموية.

قبل أن نبدأ يجب أن ننوه على أهميّة الملاحظات الموجودة في المحاضرة والتركيز على أساسيّات المعلومات.

لنبدأ معكم من فهرسنا المتواضع ^^

الفهرس



مقدمة

- تكوّن الدم: هي عملية فيزيولوجية مسؤولة عن تكوّن خلايا الدم جميعها حيث أن للخلايا الدموية عمر محدد ويُتَخلَّص منها في الكبد أو الطحال ويتم تعويض الخلايا الميتة من قبل ما يسمى **بالخلية الجذعية stem cell**، وتنقسم هذه العملية إلى:
  1. تكوّن الكريات الحمر erythropoiesis.[1]
  2. تكوّن الكريات البيض (تقسم إلى تكوّن الوحيدات monocytopoiesis والمحبّبات Granulopoesis واللمفاويات lymphopoiesis).
  3. تكوّن الصفيحات thrombopoiesis.
- **أهميتها** تكمن في **إمكانية الاستجابة** لـ "الالتهاب أو النزيف أو نقص الأكسجة" و ذلك بزيادة إنتاج الخلايا المناسبة لكل حالة.
- هذه العملية منسّقة بشكل كبير، وهي مسؤولة عن **تطوير و إنتاج و تكوين و استبدال** جميع خلايا الدم.

الخلية الجذعية stem cell

- تعد هذه الخلايا مسؤولة عن إعطاء جميع خلايا الإنسان[2] وعمليّاً هي موجودة في العديد من الأعضاء المختلفة.
- ميزات الخلايا الجذعية:
  1- **متعددة القدرات pluripotency**: أي قادرة على إعطاء خلايا ناضجة لتشكيل أعضاء وأنسجة محددة.
  2- **التجدد الذاتي self-renewal**: حيث تعد مصدر تشكل و تجديد أعضاء الجسم.
- يمكن تقسيم الخلايا الجذعية تحت **صنفين رئيسين**:
  A. بناءً على المنشأ (مصدرها في الجسم)[3].
  B. وبناءً على القدرة في التحول (أنواع الخلايا التي يمكنها التحول إليها).

---

1 تمت دراستها في المحاضرة السابقة.

2 عمليّاً كل عضو له خلية جذعية (سلايد).

3 غير ذي فائدة في مجال التصنيف لأنه كبير جداً.



- وبالاعتماد على التصنيف الثاني يكون لدينا[4]:



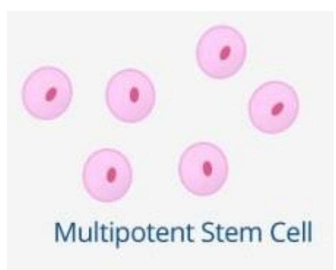
1. خلية جذعية شاملة الوسع Totipotent:

هي خلية بإمكانها إعطاء كائن حي (فرد) جديد عند توفير دعم أمومي مناسب لها.



2. خلية جذعية متعددة القدرات Pluripotent:

يمكن للخلية أن تؤدي إلى ظهور جميع أنواع الخلايا النسيجية للبالغين بالإضافة إلى الأنسجة خارج الجنينية (الخلايا التي تدعم التطور الجنيني مثل الكوريون والكيس المحي والامنيون)[5].



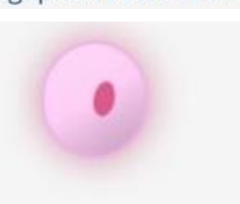
3. خلية جذعية متعددة الكوامن Multipotent:

يمكنها من تجديد نفسها والتمايز لنوع محدد من الخلايا الناضجة (مثل الخلية الميزانشيمية mesenchymal stem cell (MSC)).



4. خلية جذعية قليلة القدرات Oligopotent:

قادرة على التمايز وتجديد نفسها إلا أنها تعمل في نطاق محدود.
(ومنها الخلية الجذعية النقوية واللمفاوية وبعض المراجع البيولوجية تذكر أن الخلية المكونة للدم هي من هذا النمط أيضاً).



5. خلية جذعية وحيدة القدرة Unipotent:

صاحبة الأقل قدرة والنمط المحدود (مثل الخلية الجذعية العضلية والعصبية).

> قد يمر في المحاضرة بعض الاختلاف عن هذا التصنيف، ومعلومات معاكسة لما ذكر سابقاً وهذا ليس بخاطئ بل إنما الأمر يتعلق بالمراجع، ويرجى قراءة أول 3 فقط لورودهم ضمن السلايدات وما ذكر بين قوسين غير مطالبين به.

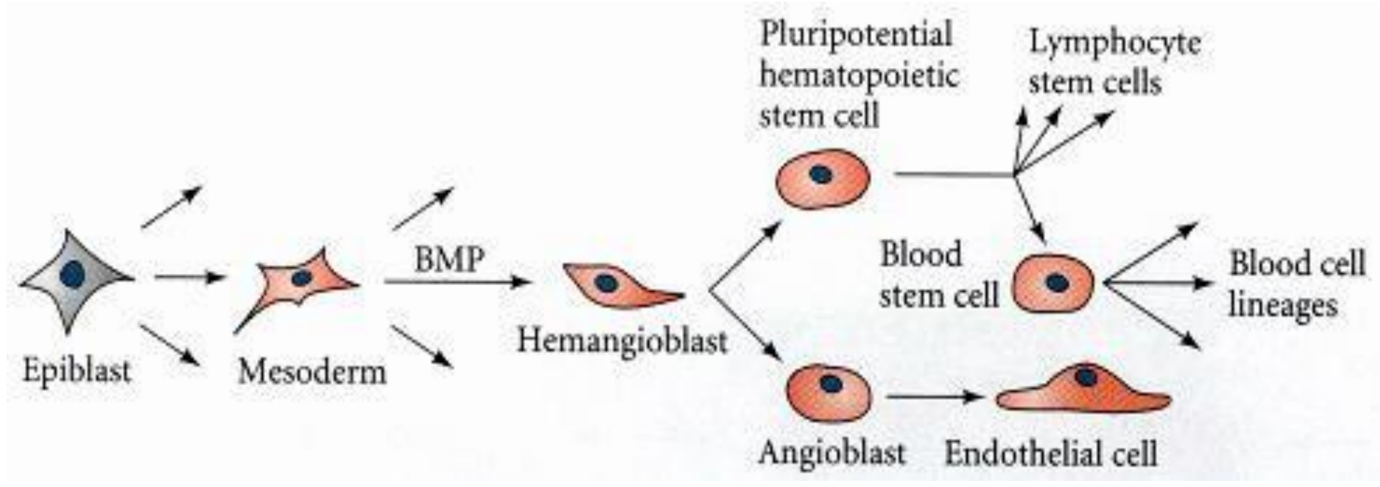
---

[4] ذكر بالسلايد أول 3 فقط أما التعدادان الآخران فمن المرجع.

[5] ما ذكر بالموقع: أنها قادرة على تجديد نفسها والتمايز إلى أحد الطبقات الجنينة الثلاث دون أنسجة خارج جنينية.

الخلية المكوّنة للدم The hemopoitec stem cell

- تنشأ هذه الخلية من الأرومة الوعائية Hemangioblast والتي تُشتَق من خلايا الأديم المتوسط mesoderm cells، كما وتمتلك الأرومة الوعائية القدرة على التّطور إلى جميع أنواع خلايا الدم و الخلايا البطانية الوعائية[6] فهي من نمط متعدد القدرات multipotent.



- ميزات هذه الخلايا المكونة للدم HSCs:

a) تعد الخلية الأم لكل خلايا الدم الموجودة.

b) عددها ثابت دون زيادة أو نقصان وذلك لقدرتها على التجدد الذاتي حيث تسمح ببقاء خلوية النقي ضمن المقاييس التي تحافظ على وظائف الجسم، وتشكل[7] $1/20\times 10^6$ من خلايا النقي المنواة.

c) متعددة القدرات pluripotent8.

d) قادرة على التمايز حيث تتطلب مجموعة من الآليات التي تحدد مصير تمايز هذه الخلية، تتضمن مجموعة من الإشارات الكيميائية الحيوية و تنظيم مورثي داخل الخلية (بحالة الصحة).

e) حجمها صغير تشبه الخلية اللمفاوية وموجودة بشكل ثابت بالنقي ولا يمكن خروجها للدم المحيطي إلّا....[9] .

[6] لن نتطرق لنسيلة هذه الخلية و التي تتمايزإلى خلايا بطانية.

[7] واحد على عشرين مليون :3.

[8] يفترض أن تكون multipotent وننوه (بعض الابحاث صنفتها ضمن قليلة الامكانات oligopotent) ولكن كتبنا ما وجد بالسلايد.

[9] تابع بالملاحظة بالصفحة الثانية .



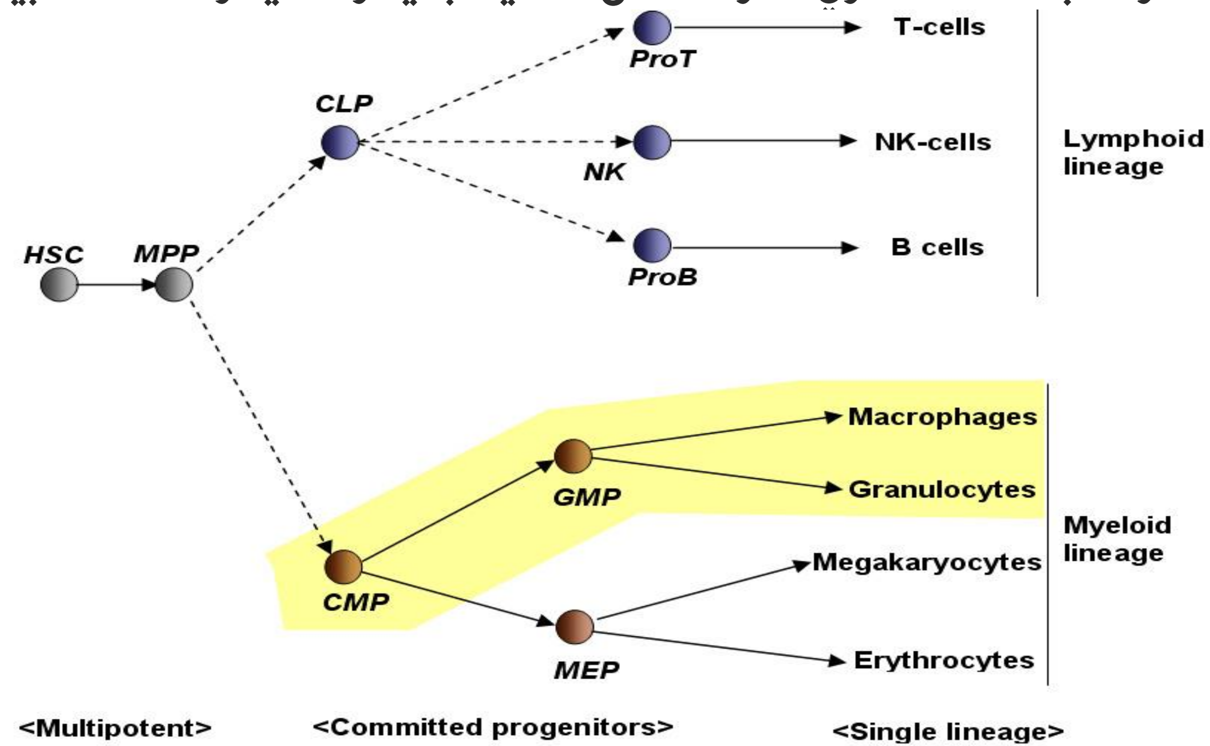
ملاحظات:

- ممكن أن تخرج إلى الدوران المحيطي بآليات معينة -كالآليات التي نطبّقُها عندما نريد أن نأخذ عينة من هذه الخلايا- الطرق الحديثة تهدف إلى إخراج هذه الخلايا من نقي العظم للدوران عن طريق إعطاء عوامل نمو معينة قادرة على فك ارتباطها بالعش الموجودة فيه بالنقي وإخراجها إلى الدوران المحيطي ثم القيام باصطيادها بعكس الطرق القديمة التي تتضمن بزل للنقي.
- تستطيع خلية جذعية واحدة إنتاج مليون خلية دم ناضجة بغض النظر عن نوعها عبر عشرين انقسام خلوي فقط.

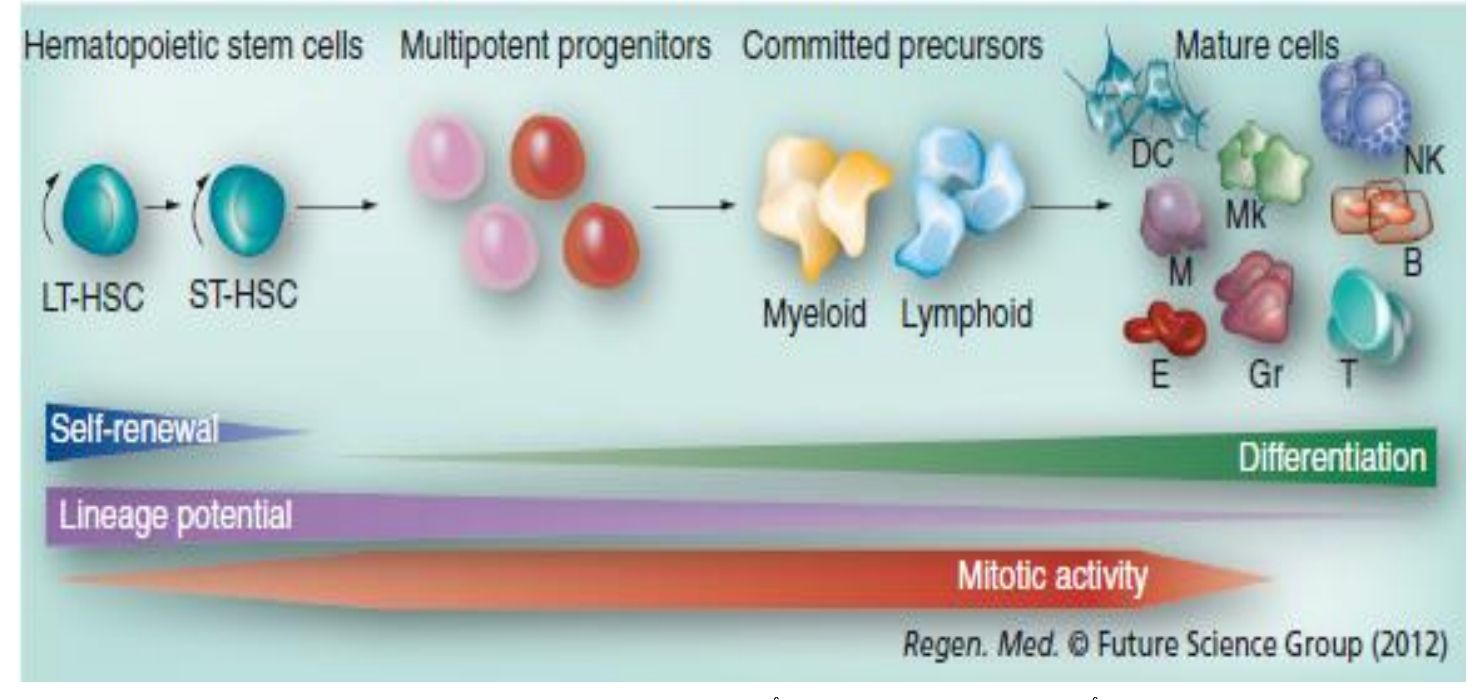
فيكم تقولوا هلأ بلشت المحاضرة:

تكوّن الدم hematopoiesis

- **هو تكوّن هرميّ، رأسه الخلية الجذعية المكونة للدم HSC و التي تعطي نوعين من الخلايا وهي أسلاف نقوية و أسلاف لمفاوية.**
- **هذه السلائف ملتزمة بمسار محدد "لم تعد جذعية"، حيث إذا التزمت بالسلف النقوي سوف تعطي <u>نوعين من الخلايا</u>:**
  - a) **نوع يعد سلف للكريات الحمراء و الخلايا النوّاءة "أم الصفيحات الدموية".**
  - b) **ونوع للمحببات و الوحيدات.**
- **أما إذا التزمت بالسلف اللمفاوي فسوف تعطى الخلايا البائية و التائية و القاتلة الطبيعية.**



❖ للخلايا الجذعية المكونة للدم نوعين "مديدة و قصيرة" ،حيث عند زراعة الخلايا المتأخرة(مديدة) تستطيع أن تقوم بإعادة إحياء للنقي لفترة طويلة، وعند زراعة الخلايا القصيرة تقوم بالإحياء لفترة قصيرة وهذا ما يؤدي إلى اختلاف نتائج زرع النقي (يعني الفرق بين ما تاخد وحدة وهي بعمر الشباب بين وحدة هرمة :3).

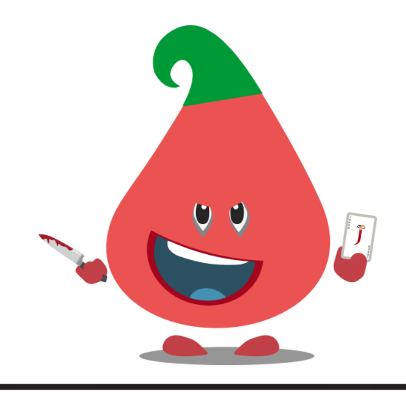


LT-HSC: طويلة الأمد، ST-HSC:قصيرة الأمد. والتي تعطي سلائف وطلائع مسؤولة عن إعطاء الأشكال كلها.
لاحظ أسفل الأشكال مقدرا التجدد الذاتي التي تتمتع به الخلية الجذعية طويلة الأمد.
وقارن مقدار التمايز وإمكانية السلالة والنشاط الانقسامي على الترتيب من الأعلى إلى الأسفل.

❖ أماكن حدوث عملية تكون الدم:

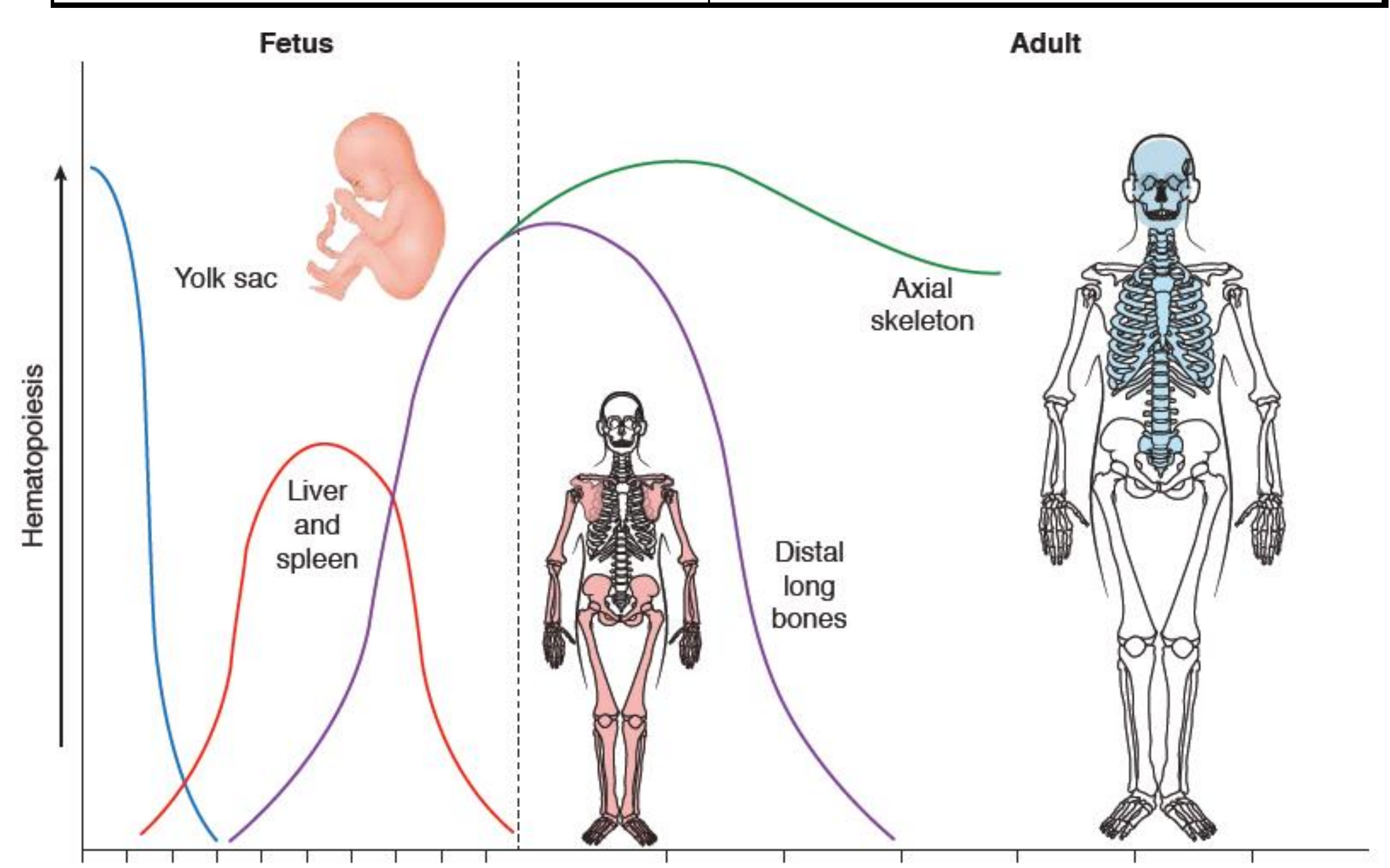
A. نقي العظم: المكان الأم للتصنيع وإنتاج خلايا الدم عبر مراحله التتابعية.

B. خارج نقوي : في الكبد و الطحال وذلك يكون في مراحل عمرية معينة وفي حالات عجز النقي عن تعويض النقص سواء أكان في حالات مرضية أم في حالات زيادة الطلب.



تابع عند قراءة الجدول[10] مع المخطط في الأسفل كي يسهل عليك الموضوع (علماً أن الدكتورة قالت بأن المطلوب منه الرؤوس الأساسية يعني أماكن التكوين الأساسية ولا تطالب بالأشهر..

Age	Site of hematopoiesis
Embryo	yolk sac then liver
3rd to 7th month	Spleen
4th and 5th months	marrow cavity - esp. granulocytes and platelets
7th month	marrow cavity - erythrocytes
Birth	mostly bone marrow; spleen and liver when needed
Birth to maturity	number of active sites in bone marrow decreases but retain ability for hematopoiesis
Adult	bone marrow of skull, ribs, sternum, vertebral column, pelvis, proximal ends of femurs



[10] الصفحة 14 من المحاضرة التانية موجود الجدول ومعرب وموسع كمان.

❖ إنّ تكوّن الدم هو عملية مجزّأة (أي بأماكن مختلفة) تتم ضمن النسج المكوّنة للدّم حيث يقسم إلى:

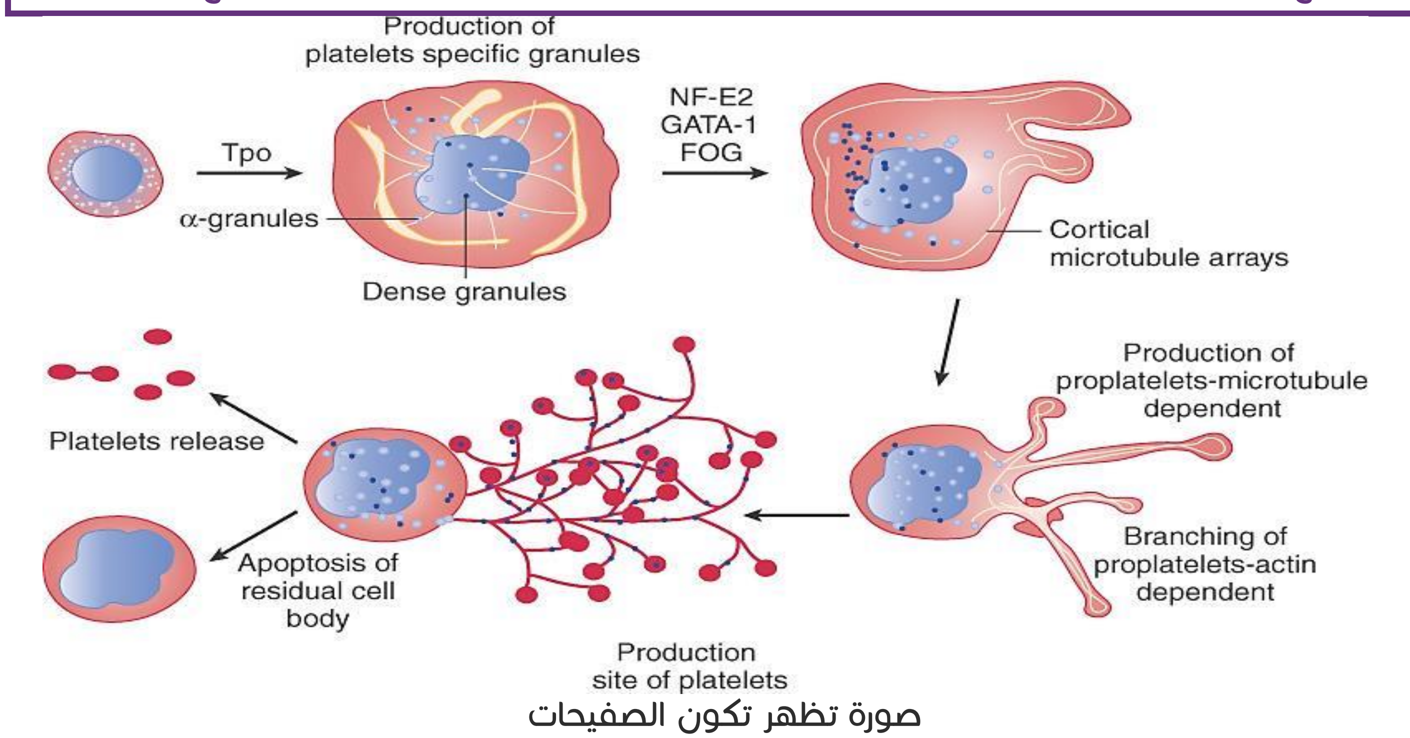
i. تكوّن الكريات الحمر erythropoiesis :يحدث في خلايا **على شكل جزر**.

ii. التكوّن المحببات granulopoiesis: يكون في مناطق **معزولة من الصعوبة تحديدها**.

iii. تكوّن النوّاءات megakaryopoiesis: تتكون في **مناطق قريبة للجيوب البطانية** حتى تتمكن من الخروج إلى الدم.

ملاحظات:

- عرضت الدكتورة صورة تبين فيها أن الخلية التغصنية تنشأ من الخلية الجذعية المكونة للدم وبنفس سلف تكون الوحيدات (يعني وهي بدها تعطي الوحيدات بيطلع فرع وبيعطي خلية تغصنية).
- كما نعلم أنّ الخلايا التائية تتكون في النقي و تنضج في التيموس، أما معظم الخلايا البائية تنتج وتنضج بالنقي إلى خلايا منتجة للأضداد كما ووجب التنويه أن جزء من الخلايا البائية تنضج بالطحال.
- كما عرضت الدكتورة صورة تبين فيها تطور الخلايا المحببة[11].
- جميع ما سبق تمت قراءتها من قبل الدكتورة على السلايدات بشكل سريع جداً



صورة تظهر تكون الصفيحات

تُجمِّع الخلية النواءة القليل من سيتوبلازماها حول القطع و تغلفها و تفصلها عنها لتتشكل الصفيحات.

[11] سنريكم إياها بآخر المحاضرة صفحة 32 من شان عنصر التحميس.:3

THE ROLE OF THROMBOPOIETIN IN PLATELET PRODUCTION

Stem cell | Megakaryocyte progenitors (BFU-MK, CFU-MK) | Immature megakaryocyte | Mature megakaryocyte | Platelets

Proliferation/differentiation | Polyploidization / Cytoplasmic maturation | Platelet release

TPO Action

تكون الصفيحات معتمدة على ثرومبوبيوتين الذي يعمل على عدة مراحل متضمناً تكاثر وتمايز ونضج سلائف الخلية النواءة إلى خلايا كبيرة متعددة الصيغ الصبغية تكون قادرة على إنتاج الصفيحات.

طرق خروج الخلايا الناضجة من النقي :

- **الكريات البيض : تجتاز جدار الجيبانات <u>بعملية الانسلال</u>** (فعلها الذاتي).
- **الكريات الحمر: تنتقل <u>بفرق مدروج الضغط</u> بين الدوران و النقي** (مثل عملية دخول الأوكسجين بفارق الضغط).
- **الصفيحات: تخرج <u>من بين الخلايا البطانية</u> حيث تشكل الخلايا النواءة أغصان تمتد بين الخلايا البطانية و تخرج من رؤوس هذه التغصّنات الصفيحات الدموية** (عُد لصورة تكون الصفيحات).

كما لا تخرج جميع هذه الخلايا الناضجة لتأخذ شكل حر بالدوران و إنما تأخذ تشكيلات معينة، كالتالي:

A. **الكريات البيض (محببات): لها تجمعين <u>تجمع ملتصق بالأوعية البطانية</u> (غير وظيفي) و تجمع وظيفي جائل بالدوران، كما لها <u>مخزون ناضج يبقى في النقي</u>.**

- الكريات البيض (50% منها مخزون و 50% منها جائل بالدورن + وجود كمية مخزونة بالنقي) ⬅ عند النقص لا تتظاهر الأعراض فوراً.

B. أما الصفيحات و الكريات الحمر فكل ما ينضج منها يخرج من النقي ولا يبقى لها أي مخزون ناضج ضمنه، وبعد أن تخرج الصفيحات و الكريات الحمر للدوران : يخزَّن 30٪ من الصفيحات (غير فعالة) و يبقى 70٪منها جائل في الدوران (هو الشكل الوظيفي) أما الكريات الحمر فليس لها أي جزء مخزن (أي تخرج من النقي للدوران بشكل كامل فكل ما ينضج يخرج ويجول بالدوران المحيطي).

- و لهذا عند حدوث استهلاك للصفيحات أو عند نقصانها لا تتظاهر دائماً بتظاهرات خطيرة وذلك بسبب وجود المخزون الاحتياطي منها الذي يعاوض النقص.
- كما ولا تظهر أعراض نقص الصفيحات حتى نفاذ الـ 30% المخزّنة، أما الكريات الحمر فعند نقصانها تتظاهر الأعراض.

↙ يعتمد تكوّن الدم على:

1- **حالات البيئة المجهرية** التي توجد فيها الخلايا الجذعية، معتمدةً على إنتاجها للمطرس خارج الخلوي الكافي. (بيئة ملائمة تتضمن المطرس المُنتَج من قبل الخلايا).

2- **عوامل النمو**.

ملاحظة: يوجد توازن عادةً بين موت الخلايا و إعادة إنتاجها.

سنتناول كل واحدة مما سبق على حدى:

A. حالات البيئة المجهرية:

↙ الأعشاش:

- الخلايا الجذعية المكونة للدم توجد ضمن عش موجود في نقي العظم[12] "للحفاظ على قدرتها في التجدد الذاتي"، بينما في المقابل تتراكم الأسلاف الملتزمين في وسط نقي العظم (لاحظ الصورة).

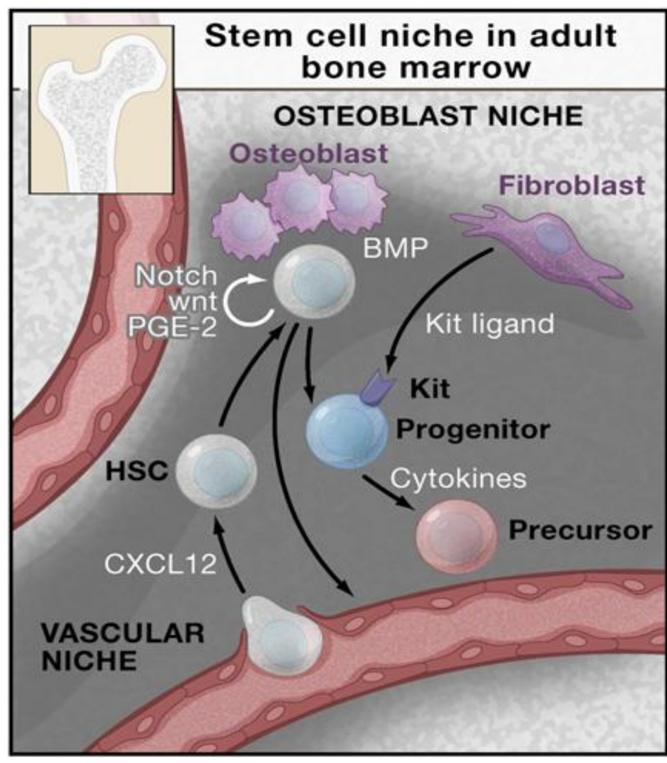
[12] هذا وإنها تمثل اللؤلؤة الموجودة ضمن الصدفة يعني كتير مهمة هذه الخلية.

- كما أنّ هذه الأعشاش ضمن النقي متواجدة في مكانين:

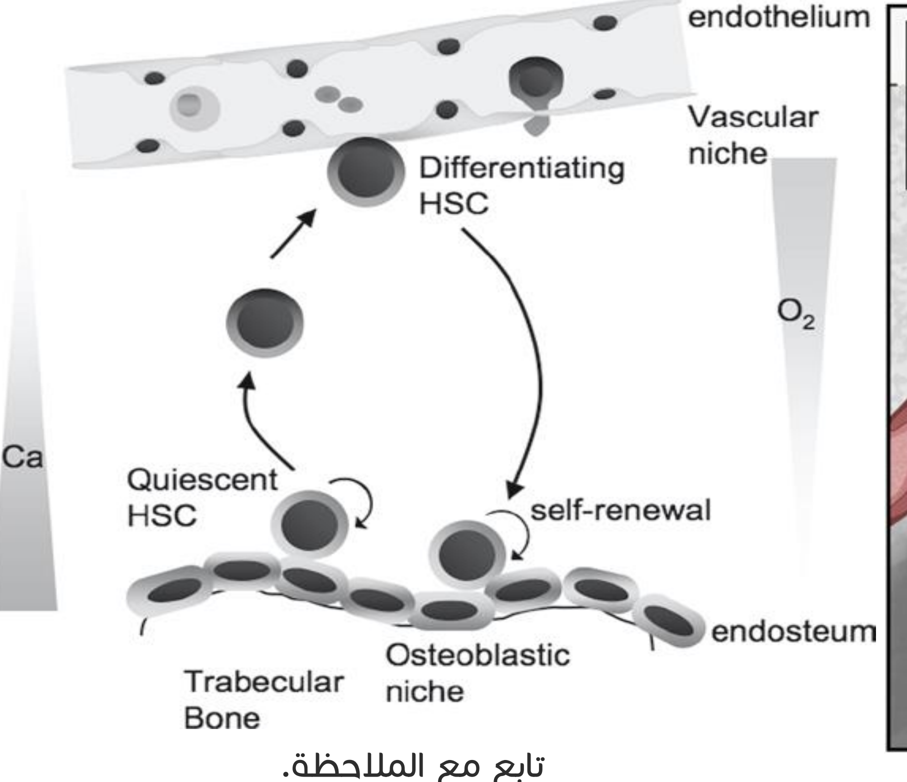
a) بتماس مع بانيات العظم و يسمى عش بانيات العظم Osteobast Niche والذي ينظم هذا الارتباط بواسطة بروتين المخلق العظمي bone morphogenetic protein (BMP).

b) بتماس مع الجدار الوعائي و يسمى بعش الجدار الوعائي Vascular Niche والذي ينظم هجرة الخلية المكونة للدم من الدوران إلى النقي هو بروتين The chemokine CXCL12.

عندما توجد حاجة لتمايز هذه الخلايا تنتقل من العش العظمي للعش الوعائي تحت إشراف إشارات معيّنة وبخاصة تراكيز الأوكسجين والكالسيوم[13] طبعاً والعكس صحيح حيث يمكنها أن تنقسم وتحافظ على نفسها ضمن العش العظمي (وذلك حسب التركيز وعوامل النمو الأخرى) .



صورة تظهر مكان الأعشاش وهجرتها.



تابع مع الملاحظة.

[13] الكالسيوم هو المسؤول (حسب دراسات) عن وفاة الخلايا.

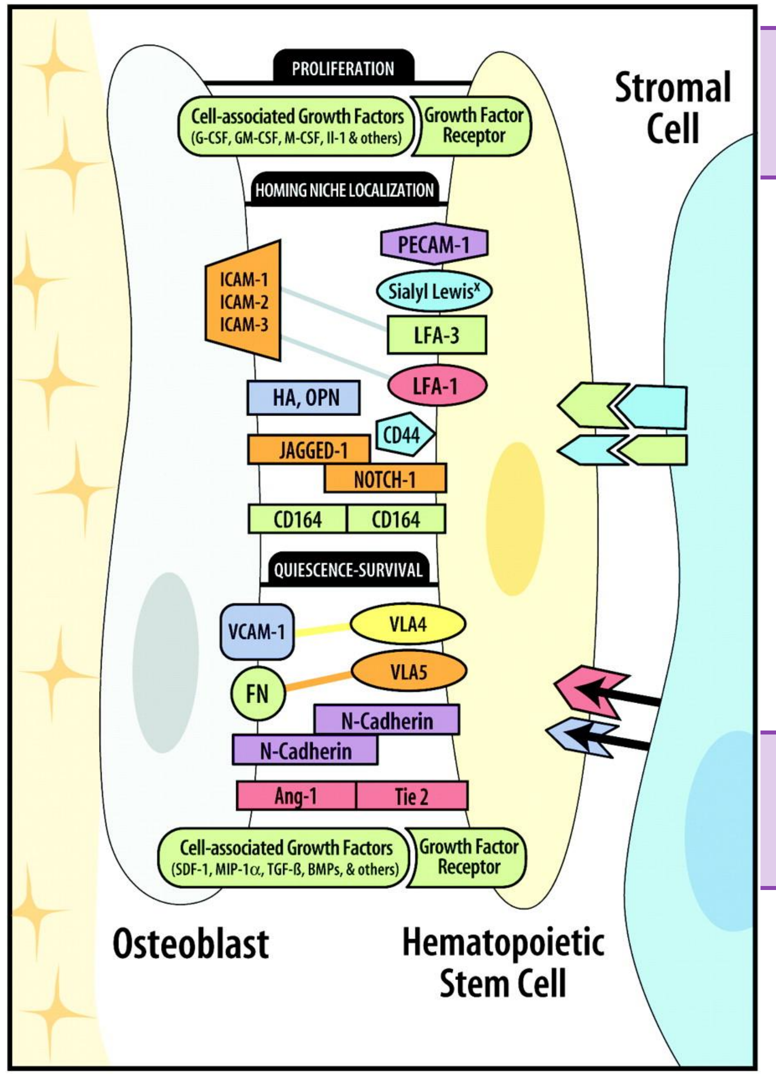


جزيئات الالتصاق:

ترتبط الخلية الجذعية ببانيات العظم بواسطة عدّة جزيئات التصاق منها :

1. *N-cadherin*:

- تكون الخلايا الجذعية عادةً في طور السكون G0 "عدم الانقسام" و يساهم التصاقها ببانيات العظم على **بقاءها في هذه المرحلة وعدم دخولها في طور التمايز**.
- هذا الالتصاق المحسن بين خلايا العش والخلايا الجذعية **يساهم في الحفاظ على هدوء الخلايا الجذعية وضمان ذاتيتها**.



هذه الصورة تُظهِر كمية الروابط والعوامل المختلفة المسؤولة عن الارتباط (للاطلاع ^_^)

2. *Osetopontin (opn)*: (الشرح للقراءة)

- يُعَبَّر عنه عن طريق بانيات العظم.
- يساهم في الاتصاق بين الخلايا الجذعية و عش بانيات العظم.
- كما ويساهم في بقاء الخلية الجذعية في طور السكون (ينظم بشكل سلبي انتشار الخلايا المكونة للدم).

3. *Thrombopoietin (Tpo)* وربيطته *Mpl*: (قراءة الشرح)

- منظِّم تكوُن الخلية النّواءة، حيث يعدّ **من المنظمين الحَرِجِين** في الحفاظ على الخلية المكونة للدم ضمن عشها الباني للعظم.
- التأشير ينظم دورة الخلية المكونة للدم البالغة الهاجعة للحفاظ على مستوى معقول من التجمع من الناحية الفيزيولوجية.

4. C-myc : (قراءة الشرح)

- يتحكم في التوازن بين التجديد الذاتي و التمايز للخلية الجذعية بضبط الالتصاق بينها و بين العش.

Bone
Endosteum
central BM
Osteoid
Quiescent HSC
Activated HSC
Ca 2+
Sinusoid
Osteoclast
Nestin⁺ MSC
β-Adrenergic Nerve Cell
Extracellular Matrix/ Secreted Factors
Osteoprogenitor
Osteoblast
Macrophage (osteomac)
Oxygen Gradient

Molecules involved in HSC Homing, lodgement and retention

Receptors expressed by HSC
CXCR4, c-Kit, 4,α9 integrins, CaR, Tie2, PSGL1, CD44, annexin II, connexin-43, protein Gsα

BM homing ligands
Constitutive expression of E and P-Selectin, VCAM1, Annexin II, CXCL12, Kit ligand

Endosteal niche ligands
ConstitutiveJagged1 and 2, Delta 1 & 4, Hes 1 and 5, N-cadherin, Annexin II, Osteopontin, Kit-L, CXCL12,Ang1,sfrp1, BMP4, Thrombopoietin, connexin 43.

هذه الصورة تلخيص لما سبق وللاطلاع

هلأ صار دور عوامل النمو نحكي عنها:

B. عوامل النمو:

✓ **تشترك عوامل النمو بما يلي:**

- كلها غليكوبروتينات.
- تنتج من العديد من أنواع الخلايا.
- تفعل الخلايا الجذعية و الأسلاف لتصل لخلايا وظيفية.

✓ **طرق تأثيرها:**

- إما طريق موضعي "عبر الاتصال بين خليتين" أو عبر الدوران العام.

✓ **وظائفها :**

- **تفعيل : "التكاثر والتمايز ولنضج و التفعيل الوظيفي اضافة إلى الوقاية من الطهاية و التموّت"، كما أنَ لها وظائف تآزرية مع بعضها.**

✓ **من عوامل النمو:**

- GM-CSF-1[14]: **المحببات-الوحيدات (الـ G له دور في تشكّل المحببات الـ M له دور في تشكل الوحيدات).**
- Erythropoietin-2: **ينبه تشكّل الكريات الحمر ،و يُنَّبه انتاجه من الكلية بواسطة نقص الأكسجة.**
- Thrombopoietin-3: **ينبه تشكّل النوّاءات المسؤولة عن تشكل الصفيحات.**

بالإضافة لعوامل النمو سنتحدث عن دور السايتوكينات ومستقبلاتها:

السايتوكينات ومستقبلاتها

❖ **تفرز السايتوكينات من أنسجة وخلايا متنوعة وذلك من أجل:**

a. **التواصل** بين الخلايا.

b. **تنبيه** الخلايا الجذعية متعددة الإمكانات للتكاثر والتمايز.

❖ **السايتوكينات (مثل IL-1) لا تمتلك القدرة لتحفيز تكاثر الخلايا بمفردها، أو قد تمتلك قدرة قليلة (مثل SCF)، ولكنها تكون قادرة على التآزر مع السايتوكينات الأخرى لتجنيد تسع أنواع من الخلايا في عملية التكاثر[15].**

❖ **تنتج معظم الخلايا السيتوكينات المتعددة** multiple cytokins، **والتي يمكن تحريضها بشكل تفاضلي بمختلف المنبهات، بما في ذلك السيتوكينات الأخرى مثل** IL-1.

❖ **الخلايا وحيدات النوى والخلايا اللمفاوية التائية والخلايا البطانية والخلايا الأرومات الليفية وخلايا سدى النقي هي مصادر مهمة للسيتوكينات المكونة للدم واللمفاوي.**

> إنتاج الإرثروبويتين (عامل محرض على تكون الدم) هو استثناء، لأنه ينتج بشكل كبير في الكلية استجابة لنقص الأكسجة.

---

[14] G من المحببات Granulocytes وM من الوحيدات Monocytes.

[15] سلايد.

- ❖ تتوضع مستقبلات السيتوكينات على أسطح الخلايا، أعدادها قليلة في الخلية الواحدة.
- ❖ تمتلك الخلايا الجذعية مستقبلات لمعظم السيتوكينات، لكن الخلايا الناضجة تملك توزيع معقد لمستقبلات السيتوكينات.
- ❖ تنتقل الإشارة عبر هذه المستقبلات و تفعّل عوامل الانتساخ التي تحدد بدورها التمايز الخلوي.
- ❖ الأسلاف "الخلايا المولدة " تتمايز بمسار محدد:

i. إما تحت تأثير عوامل الانتساخ GATA-1 و FOG اللذان يعززان التمايز نحو كريات حمر و صفيحات.

ii. أو تحت تأثير عوامل الانتساخ SCL و AML-1 و GATA-2 اللذان ينظمان تمايز الخلايا الجذعية البدائية "الأولية.

Multipotential hematopoietic stem cell (Hemocytoblast)
IL-1
IL-3
IL-6
GM-CSF
SCF
Common lymphoid progenitor
FLT-3 ligand
TNF-α
TGF-β1
IL-2
IL-7
IL-12
SDF-1
Common myeloid progenitor
SCF
TPO
IL-3
GM-CSF
SCF
Epo
IL-3
GM-CSF
GM-CSF
Small lymphocyte
IL-1
IL-2
IL-4
IL-6
IL-7
Megakaryocyte
Erythrocyte
Myeloblast
B lymphocyte
T lymphocyte
Thrombocytes
SCF
G-CSF
GM-CSF
IL-3
IL-6
SCF
G-CSF
GM-CSF
IL-3
IL-6
IL-3
IL-5
GM-CSF
SCF
M-CSF
GM-CSF
IL-3
IL-6
Basophil
Neutrophil
Eosinophil
Monocyte

الشكل التالي يوضح تأثير عوامل النمو على تمايز الخلايا الجذعية



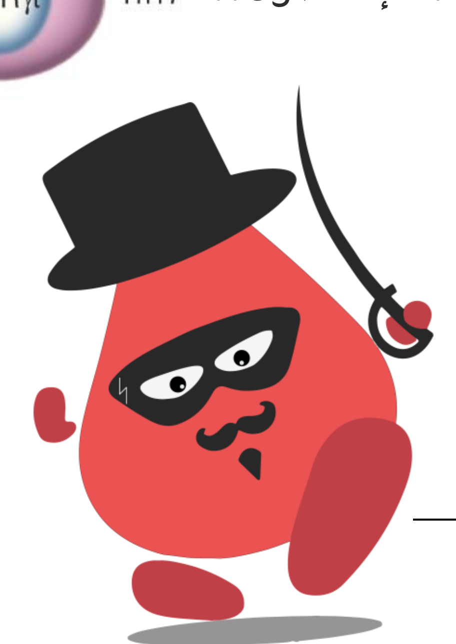
❖ بعض الأمثلة عن السايتوكينات وأدوارها[16]:

1- التكوّن النّقوي Myelopoiesis هي:

- عامل الخلية الجذعية stem cell factor (SCF).
- 3 كيناز التيروزين الكبدي الجنيني Fetal liver tyrosine kinase 3 (FLT3)
- العامل المنبه لسلالة المحببات والوحيدات Granulocyte Monocyte-Colony stimulating factor (GM-CSF)
- العامل المنبه لسلالة المحببات Granulocyte-Colony stimulating factor (G-CSF)
- العامل المنبه لسلالة الوحيدات Monocyte-Colony stimulating factor (M-CSF).
- انترلوكين 5 (IL-5) وانترلوكين 3 (IL-3).

2- تكوّن الخلايا التائية:

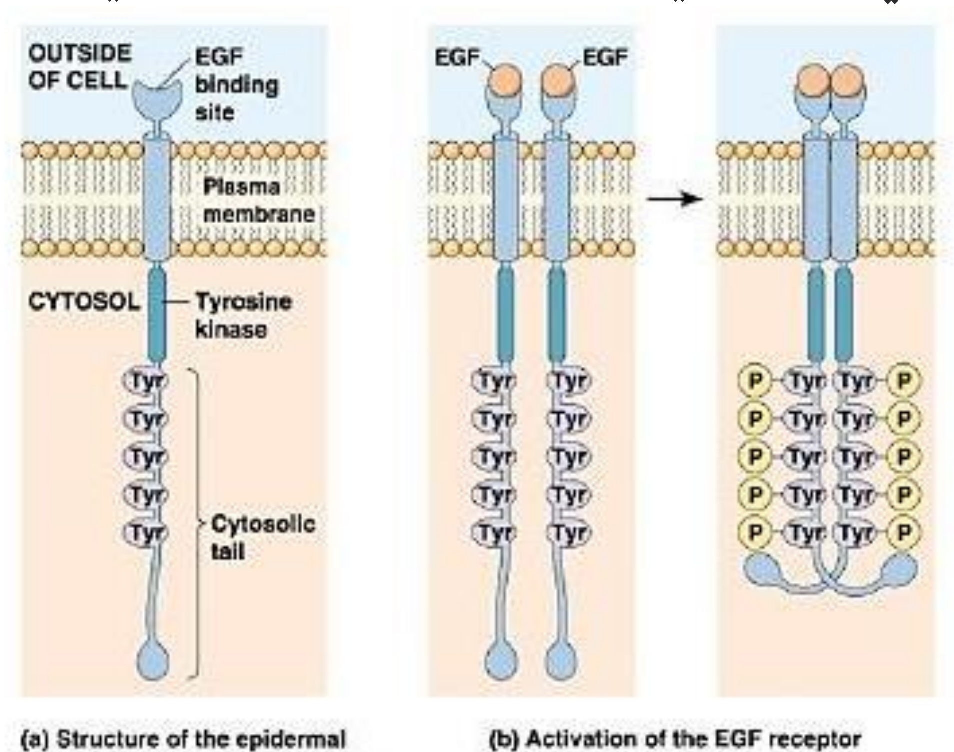
- TGF β, IL-6: لإعطاء Th17.
- IL-4: لإعطاء Th2.
- IFN γ, IL-12: لإعطاء TH1.
- TGF β: لإعطاء Treg.



[16] الدكتورة قرأتهم قراءة.

مستقبلات عوامل النمو و تنبيغ الإشارة (اطلاع):

- ✓ تتوسط عوامل النمو المكونة للدم HGFs أفعالها على مستقبلات معينة موجودة على الخلايا الهدف.
- ✓ معظم مستقبلات العوامل تنتمي لعائلة المستقبلات المكونة للدم، والتي تصبح مثنوية بعد ارتباطها بالربيطة.
- ✓ عندما يصبح المستقبل مثنوي Dimerization هذا يؤدي لتفعيل سلسلة من مسارات الانتساخ داخل خلوية.
- ✓ كيف تتم عملية التفعيل:
  1. يرتبط عامل النمو مع مستقبله على سطح الخلية الهدف
  2. بلمرة هذا المستقبل (ارتباطه مع جزيئة مماثلة له بعد ارتباطه بعامل النمو)
  3. إنتاج شلال من الأحداث الكيمياء الحيوية إما:
     - لتعبير جيني أو تكاثر خلوي أو تمايز أو نضج أو منع التموت الخلوي.







Overview *_*

- نمط واحد من الخلايا الجذعية HSC قادرة على إعطاء جميع خلايا الدم الناضجة في الجسم.
- خلية جذعية كثيرة الإمكانات pluripotent stem cell تشكل:
  - خلايا لمفاوية متعددة الإمكانات multipotent.
  - خلايا نقوية متعددة الإمكانات multipotent.
- الخلايا الجذعية والخلايا السليفة والخلايا الأرومية والناضجة هي أنواع مختلفة موجودة ضمن النقي العظمي.
- أماكن تكوّن الدم تختلف تبعاً للعمر.

ميزات الخلايا المكونة للدم HSCs:
- تعد الخلية الأم لكل خلايا الدم الموجودة
- عددها ثابت
- متعددة القدرات
- يوجد منها نوعين مديدة وقصيرة
- قادرة على التمايز
- حجمها صغير تشبه الخلية اللمفاوية

تكون الدم يعتمد على:
- حالات البيئة المجهرية
  - عوامل الالتصاق
    - أهمها N- cadhrene.
  - الأعشاش
    - عش بانيات العظم
    - عش وعائي
- عوامل النمو
  - المستقبلات
    - تنتقل الإشارة عبر هذه المستقبلات لتفعل عوامل انتساخ معينة.
      - عوامل الانتساخ SCL وAML-1 و GATA-2
        - تنظم تمايز الخلايا الجذعية البدائية
      - تحت تأثير عوامل الانتساخ GATA-1 وFOG
        - تعطي كريات حمر وصفيحات
  - وظائفها
    - تفعل الخلايا والسلائف
  - طرق تأثيرها
    - موضعي أو بالدوران
  - ميزات
    - غليكوبروتينات

والآن نصل إلى جزئنا الثاني من المحاضرة والذي سنتكلم فيه عن طرق دراسة خلايا الدم وعن بعض اضطراباتها سواءً أكانت اضطرابات كيفية أم كمية.

تعداد أو مخطط الدم Hemogram

لتقييم شكل و عدد خلايا الدم نلجأ لاختبار "تعداد الدم Hemogram " **أو ما يعرف بـ** Complete Blood Count **اختصاراً** CBC.

فعلياً نلجأ لهذا الاختبار فقط لمعرفة تعداد الخلايا، أمّا لمعرفة شكل الخلايا نلجأ للّطاخة.

يتضمن هذا الاختبار :

- فحص كمي أو تعداد دموي
- فحص شكلي: دراسة شكلية لمختلف مكونات الدم تشمل صيغة البيض والبحث عن شذوذات شكلية.

A. مبدأ تعداد الدم:

- يُقدّرُ التعداد مستوى الخلايا الدموية المختلفة في حجم محدد من الدم.
- حسب النظام العالمي للواحدة(SI) : تعبِّر عن **<u>الحجم بليتر من الدم</u>**[17].

ملاحظة هامة جداً:

- قبل تفسير تعداد الدم يجب أن نضع في الذهن تبدّلات عدد الخلايا الدموية يمكن أن يعود:
  - إلى تبدّلات حقيقة في العدد الكلي للخلاّيا.
  - أو إلى تبدّلات في كميّة البلازما: وهكذا فإن نقص كميّة البلازما يمكن أن يُحاكِيٍ ارتفاع عدد الكريات الحمر.

[17] في الممارسة مازال يستعمل التعداد في ملم^3 دم.

B. طرائق تعداد الدم (قراءة):



فيديو يبين الطريقة القديمة في القياس.

في السابق:

- ✓ بتقنية المجهر واستعمال خلايا مسطرة ومدرجة: خلايا Malassez أو خلايا Thoma.

حالياً:

- ✓ يجرى التعداد بمساعدة أجهزة آلية تستخدم مبادئ مختلفة، وهي ذات دقة عالية لأنها تعد حوالي 10000 خلية وتعمل على حجم صغير جداً (50 ميكروليترا µl أو أقل).
- ✓ الأجهزة الآلية الرئيسية هي الأجهزة المسوّقة بواسطة شركات ABX، Abott، Coulter-Beckman، Sysmex و Bayer-Technicon.



- ✓ تُجْرى الفحوص على عينة دم، غالباً مسحوبة على EDTA والذي يقوم بخلب الكالسيوم. وهذا يجنب تشكل خثرة في الأنبوب لأن وجودها يؤدي إلى نتائج خاطئة.
- ✓ الأجهزة تقدم أيضاً منحنيات توزع حجم الخلايا و مؤشرات التوزع والتي فعلياً قليلة الاستعمال في الممارسة.

من الممكن إذاً اجراء التعداد على عينات شعرية دقيقة، وهذا مفيد جداَ عند الطّفل أو عند المرضى الذين لديهم صعوبة في الوصول للوريد.



C. نتائج تعداد الدم:

- ✓ في الحالات الطبيعية: لا تكون قيم بل إنما تكون على **شكل مجالات** "مع ربط هذه المجالات مع العمر و الجنس إن وجد ارتباط".
- ✓ نوهت الدكتورة على ضرورة معرفة الواحدة و أدرجت الجدول التالي كمثال:

	الرجل	المراة	الطفل
الكريات البيض	4-10 000/mm^3	4-10 000/mm^3	**5-15 000/ mm^3**
الكريات الحمر	4.5-6 000 0000[18]/mm^3	**4.5- 500 000/ mm^3**	4.5-6 000 0000/mm^3
الخضاب	13-17 g/dl	**11.5-15 g/dl**	12-14 g/dl
الهيماتوكريت	0.40-0.54	**0.37-0.47**	0.36-0.44
MCV	80-100 fl	80-100 fl	80-100 fl
MCH	27-32 pg	27-32 pg	27-32 pg
MCHC	30-36 g/dl	30-36 g/dl	30-36 g/dl
الشبكيات	20-120 000/ mm^3	20-120 000/ mm^3	20-120 000/ mm^3
الصفيحات	140-400 000/ mm^3	140-400 000/ mm^3	140-400 000/ mm^3
PN	2-7500/ mm^3	2-7500/ mm^3	2-7500/ mm^3
PE	40-500/ mm^3	40-500/ mm^3	40-500/ mm^3
PB	10-100/ mm^3	10-100/ mm^3	10-100/ mm^3
Lymphocyts	1500-4 000/ mm^3	1500-4 000/ mm^3	**3 000-6 000/ mm^3**
Monocyts	200-1 000/ mm^3	200-1 000/ mm^3	200-1 000/ mm^3

القيم الطبيعية لاحظها على شكل مجالات ومرتبطة بالجنس لتعداد الدم عند الرجل، المراة والطفل.

> يجب أيضاً الانتباه دائماً إلى ملف المريض: هل هي حامل في حال كانت امرأة، والطفل في أي عمر بالتحديد لأن النتائج مرتبطة جداً بهذه الحالات.

[18] 4.5 – 6 million ونفس الشي يلي ناحها.

✓ يتناول القياس:

1) الكريات البيض:

- الجهاز يعطي عدد الكريات البيض في وحدة حجم الدم وإنّ الكثير من الأجهزة تُجري صيغة الكريات البيض بشكل آلي.
- **الصيغة: هي التوزع بالنسبة المئوية في[19] 5 مجموعات كبيرة للكريات البيض الموجودة عند البالغ الطبيعي وتختلف حسب العمر ولا علاقة لها بالجنس:**
  - عديدات نوى معتدلة.
  - عديدات نوى حامضية.
  - عديدات نوى أسسة.
  - خلايا وحيدة.
  - خلايا لمفاوية.
- تفسير الصيغة يجب ألّا ياخذ بالحسبان إلا للرقم الكلي لكل مجموعة من الكريات البيض بوحدة الحجم (عدد الخلايا في ملم^3).
- مثال: إن التبدل من 40٪ عديدات نوى معتدلة إلى 10٪ يمكن أن يعود:

إما إلى نقص في عديدات النوى المعتدلة، أو إلى زيادة مجموعة خلوية أخرى كالخلايا اللمفاوية.

إذاً يجب أن نعتمد دائماً على القيم المطلقة المعطاة من الجهاز أو المحسوبة اعتباراً من الكريات البيض والنسب المئوية ونقارنها مع مجالها الطبيعي.

2) الكريات الحمر:

- الجهاز يعطي عدد الكريات الحمر في وحدة حجم الدم.
- ويعطي مناسب(ثوابت) الكريات الحمر:
  - **مستوى الخضاب.**
  - **الهيماتوكريت.**
  - **متوسط حجم الكرية.**
  - متوسط تركيز الخضاب في الكرية MCHC ومتوسط حمل الكرية من الخضاب MCH.

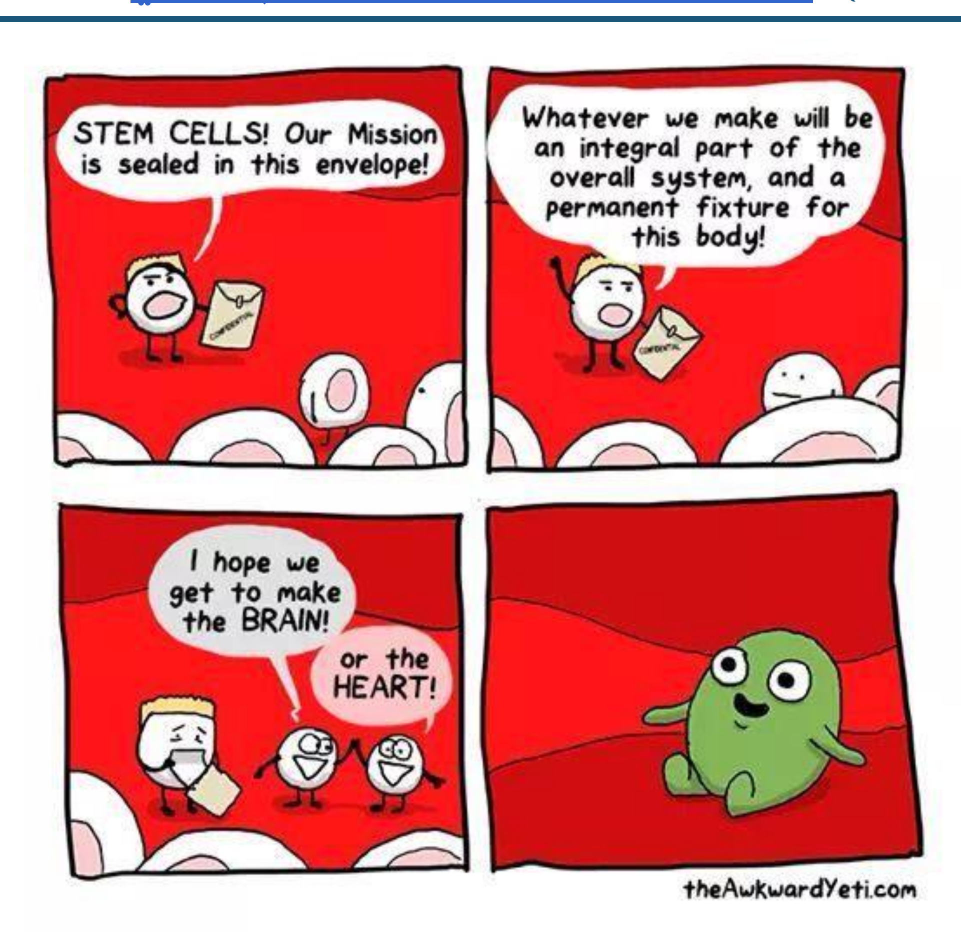
3) الصفيحات:

- تشير الأجهزة إلى عدد الصفيحات في وحدة حجم الدم ومؤشرات توزّع الحجم والأبعاد.

[19] وفي بعض الأجهزة بتعطي 3 (محببات ولمفاويات وحيدات).

ملاحظات[20]:

- لتشخيص فقر الدم ننظر للخضاب و الهيماتوكريت[21]".
- عدد الشبكيات يعطي دلالة على قدرة النقي على معاوضة فقر الدم "هل النقي منتج ام لا؟" اذا كان عددها تحت الـ 20 ألف يكون غير معاوض، فوق الـ120 ألف يكون معاوض.
- يجب اضافة مانع تخثر " الأكثر شيوعاً EDTA "لعينة الدم التي نجري عليها اختبار الـ CBC.
- يجب أن نسحب كمية كافية من الدم "حتى نصل للعلامة الموجودة على أنبوب الإختبار و لو واجهنا بعض الصعوبات كأن يكون الشخص الخاضع للإختبار طفل حديث الولادة".
- اختبار ال CBC هو الاختبار الأكثر طلباً بالعالم (بسياق التشخيص أو شكوى مرضية أو التشييك "الطمأنة") "**يعتبر هذا الإختبار خزعة من النسيج الدموي**".



[20] الملاحظتين الثالثة والرابعة هي أهم شي لأنو اذا مأخذناهم بعين الاعتبار فأكيد لح نحصل على نتائج خاطئة.

[21] الدكتورة قالت فقط الخضاب ولكن السلايدات والمراجع تقول 2.

تفسير تعداد الدم[22]

- هي دراسة تحليلية للتبدلات الكمية والكيفية للسلاسل المختلفة والوصول إلى تشخيص اعتباراً من تجميع هذه التبدلات.

A) تفسير تعداد الكريات البيض:

	الكريات البيض	عديدات النوى المعتدلة	الحامضات	عديدات النوى الأسسة.	الخلايا اللمفاوية	الوحيدات
زيادة	فوق 10×10^9 /ل.	فوق 7.5×10^9 /ل.	0.5×10^9/ ل.	لايوجد رأي متفق له حول الرقم الاعظمي.	فوق 4×10^9 /ل	فوق 10^9 /ل
نقص	تحت $10^9\times4$ /ل.	تحت 2×10^9 /ل.	تحت 0.04×10^9 /ل	--	تحت 1.5 $\times10^9$ /ل	تحت 0.2 $\times10^9$ /ل
وجود غير الطبيعي في الدم لبعض الخلايا النقوية	خليفة النقوية، النقوية وحتى سليفة النقوية ووجود هذه الخلايا يدعى نقوية الدم، وهي ليست ذات قيمة إلا إذا كانت أكثر من 5% من الكريات البيض.					
وجود خلايا مرضية في الدم	أرومات البيض الابيضاضية، خلايا لمفاوية سرطانية					

B) تفسير تعداد الكريات الحمر:

يشمل هذا التعداد 6 متغيرات هامة:

1. عدد الكريات الحمر.

[22] هذه الفقرة لم تتكلم شي عنها الدكتورة ولكنها كانت موجودة بالسلايدات.

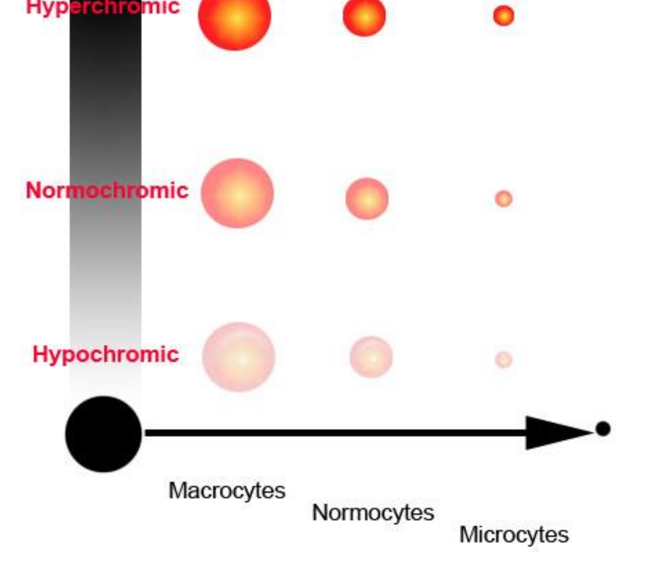
2. مستوى الخضاب:

- ✓ يقاس بواسطة الجهاز بتقنية لونية تحدد كمية خضاب الكريات الحمر الموجودة في حجم من الدم يعبر عنها عادة عكس التوصيات العالمية بـ غ/دل.

3. الهيماتوكريت:

- ✓ يمثل الهيماتوكريت الحجم الذي تشغله الكريات الحمر في حجم معين من الدم.
- ✓ يعبر عنه الهيماتوكريت بنسبة مئوية او ب l/l.
- ✓ يمكن أن يُقاس مباشرة دون جهاز بعد تنبيذ بسيط للدم (مهم لأطباء التخدير والانعاش: هيماتوكريت دقيق وريدي[23]).

4. متوسط حجم الكرية الحمراء MCV



- ✓ هذه القيمة تمثل الحجم الوسطي لكرية حمراء كانت في السابق تحسب الصيغة التالية:

$$MCV = \frac{Hematocrit(\%) \times 10}{RBC\ (\times 10^{12}/L)}$$

- ✓ الأجهزة الحالية تقيس مباشرة الحجم الوسطي للكريات الحمر ثم تحسب الهيماتوكريت بضرب الحجم الوسطي للكرية الحمراء بعدد الكريات الحمر.
- ✓ زيادة حجم الكرية الوسطي يدعى كبر الكريات.
- ✓ نقص هذا الحجم الكريوي الوسطي يسمى صغر كريات.

5. حمل الكرية الوسطي من الخضاب(يسمى ايضا محتوى وسطي من الخضاب في الكرية)MCH

- ✓ وزن الخضاب في كل كرية حمراء، تحسب بالصيغة التالية:

$$MCH = \frac{Hb\ (g/dL) \times 10}{RBC\ (\times 10^{12}/L)}$$

23 دقيق وريدي يعني من الوريد ما في حاجة للدخول للشريان ودقيق يعني ثقب صغير بالاصبع يكفي وبعد الحصول على الرسابة الدموية (الهيماوتركيت) تقوم أطباء الانعاش والتخدير بقسمة الرقم على 3 ليعرفوا كمية الخضاب.(توضيح من عنا).

6. وسطي تركيز الخضاب في الكرية(MCHC)

✓ هو الحجم الذي يشغله الخضاب في كرية حمراء. وهو يعبر عنه اذا بنسبة مئوية أو L/L.

✓ MCHC لا يمكن ان يزداد وكل زيادة أعلى من 36٪ تتعلق عادة بخطا تقني: سوء ضبط الجهاز، أوتداخلات.

$$MCHC = \frac{Hb\ (g/dL) \times 100}{Hematocrit\ (\%)}$$

C) تفسير تعداد الصفيحات:

- الرقم الطبيعي للصفيحات هو من $10^9\times$ 150-400/ل (150 000- 400 000 /ملم³)
- انخفاض عدد الصفيحات يدعى قلة الخلايا التخثرية thrombocytopénie أو قلة الصفيحات thrombopénie.
- ارتفاع عدد الصفيحات يسمى كثرة الخلايا التخثرية thrombocytose.
- يوجد سبب للخطأ بالنسبة لنقص الخلايا التخثرية:
  - وجود خثرة في الأنبوب.
  - لدى بعض الأفراد، مضاد التخثر المستعمل في تعداد الدم (EDTA) يحدث تجمع للصفيحات والذي يجعلها تترسب فهذا يعطي نقص صفيحات كاذب.
  - من الضروري أمام نقص صفيحات إجراء تحقق من عدد الصفيحات على مضاد تخثر آخر: سيترات ، هيبارين.

اللطاخة الدموية

❖ نطلبها عند وجود أي شذوذ (قيم غير طبيعية) بمخطط الدم "أي نتائج اختبار ال CBC" ودراسة اللطاخة ضروري جداً قبل التشخيص.

مثال: بعد إجراء اختبار الـ CBC لشخص ما وُجد عنده نقص في عدد الصفيحات، نطلب هنا اللطاخة الدموية لهذا الشخص لنفي نقص الصفيحات الكاذب"عدد الصفيحات طبيعي لكنها مكدسة فوق بعضها".

❖ الوظيفة الأساسية لاختبار اللطاخة: هي معرفة أشكال الخلايا و ملاحظة الشذوذات، فمن الممكن مثلاً أن نشاهد كريات حمر منجلية أو بيضوية أو مكوّرة أو مشوكة أو حتى طفيليات داخل هذه اللطاخة" كما يندرج ضمن كلمة أشكال الخلايا " لونها و حجمها".

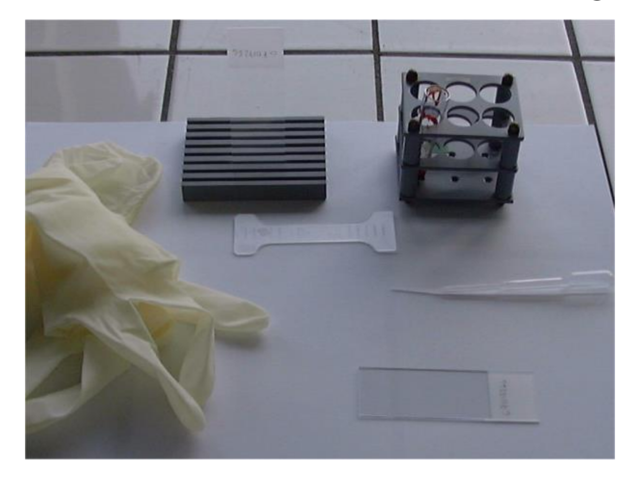
- لانعطي أي تشخيص قبل مقارنة نتائج اختبار الCBC و اللطاخة و الحالة السريرية.

❖ **كما يمكن من خلال فحص اللطاخة اختبار الصيغة، حيث من الممكن أن يكون هناك أرومات جوّالة بالدم ويصنفها جهاز اختبار الـ CBC مع الكريات البيض، فهنا يجب تعديل قراءة الجهاز وفق اللطاخة (مثل مرضى التلاسيميا و داء حديثي الولادة :حيث يكون عند الوليد فقر دم انحلالي، و يكون نقي العظم بأوّج نشاطه لتعديل النقص في الكريات الحمر فنشاهد هنا أرومات للكريات الحمر في الدوران يعدّها الجهاز كريات بيض).**

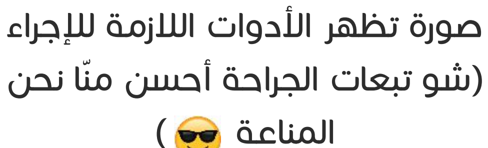
طريقة تحضير اللطاخة:

- **تحضر اللطاخة من قطرة دم ممدودة على شريحة (من الإصبع مباشرة[24] أو من الأنبوب مع مانع تخثر[25]).**
- **يجب أن تمد بشكل صحيح، لتفصل الخلايا جيداً، ثم تجفف دون أن تثبت ثم تلون (الملون الأكثر استعمالاً هو ملون May-Grünwald-Giemsa).**

1. **نأخذ قطرة دم و نضعها على سلايد ثم حضر الساترة و نضعها فوق القطرة بزاوية 45.**
2. **تترك لتتوزع بشكل متجانس على طول الشطبة او تماس الميلان.**
3. **ثم قم بإجراء حركة نقل أفقي سريعة محافظاً على زاوية 45 تقريباً دون الضغط، على طول الصفيحة.**
4. **جفف بالتحريك لتثبيت مؤقت للخلايا ثم ضع الصفيحة بحيث تأخذ كامل القطرة.**






صورة تظهر الأدوات اللازمة للإجراء (شو تبعات الجراحة أحسن منّا نحن المناعة )

[24] أفضل تقنية.

[25] لأسباب عمليّة



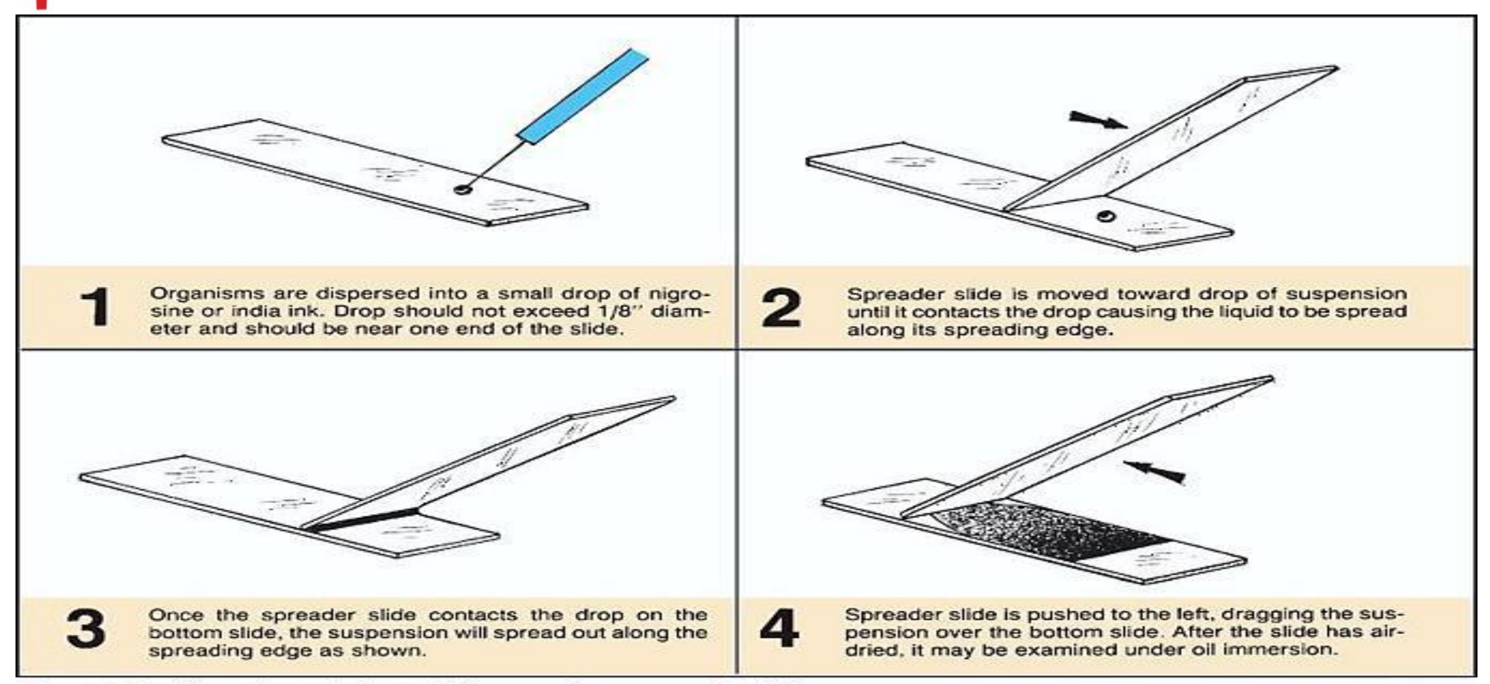


Figure 11.1 Negative staining technique, using a spreader slide

هناك العديد من الاختبارات الأخرى مثل رحلان الخضاب وعدّ الخلايا بطريقة التدفق والوسم المناعي (تحدد أفضل العلاج)[26].

المعلومات المقدمة عبر اللطاخة الدموية[27]:

1. الكريات البيض:

- صيغة الكريات البيض من 100 او 200 خلية(نسب مئوية).
- شذوذات شكلية للكريات البيض: يمكن أن تكون تغيرات شكلية للخلايا الموجودة عادة:
  - عديدات نوى ذات نواة غير مفصصة.
  - خلايا لمفاوية ذات سيتوبلازما مفرطة الأسسة.
  - وجود ارومات بيض ابيضاضية.

2. الكريات الحمر:

- الفحص المجهري يسمح بالتعرف على شذوذات:
  - الحجم: كبر كريات، صغر كريات، تفاوت الكريات

[26] نوهت الدكتورة على أن المطلوب منا هو رحلان الخضاب وCBC ولطاخة الدم المحيطي. (الخضاب لم تعرضه الدكتورة في هذه المحاضرة)

[27] أيضاً هذه الفقرة لم تتكلم عنها شي الدكتورة ولكنها موجودة بالسلايد.



- الشكل: فصيمات كروية، تمنجل الدم...الخ
- التلون: تبكل الكريات او شذوذات مرافقة لتغيرات حجم الكريات الحمر.
- اندخالات من منشأ طفيلي أو بقايا نووية.

3. الصفيحات:

- فحص لطاخة الدم لا يقدم مساعدة كبيرة في اضطراب صفيحات الدم
- الشذوذات المصادفة أحياناً هي صفيحات عملاقة: خلايا تخثرية كبيرة.

فحوصات أخرى

1- البيولوجيا الجزيئية:

- تطبق تقنيات البيولوجيا الجزيئية بشكل متزايد في الدمويات وبشكل خاص لامراض الدم الخبيثة.
- التطبيقات الأساسية:

1. المساعدة على التشخيص في الأمراض المكتسبة(ابيضاض نقوي مزمن، بعض الابيضاضات الحادة، بعض اللمفومات).
2. خارج الدمويات الخلوية: الهيموفيليا، أمراض الخضاب، الاستعداد للتخثر.

2-تحاليل وظيفية للمجموعات الخلوية المختلفة:

- يتوفر اختبارات كثيرة جدا لدراسة وظائف عديدات النوى المعتدلة، الصفيحات والكريات الحمر.

3- الدراسة بالنظائر:

- يتناقص استعمالها في الدمويات لأنها طويلة ومكلفة.
- يمكن أن نحدد بمساعدة نظائر:

1. متوسط عمر الكريات الحمر ومكان تخربها
2. او متوسط عمر الصفيحات والمكان الرئيسي لتخربها

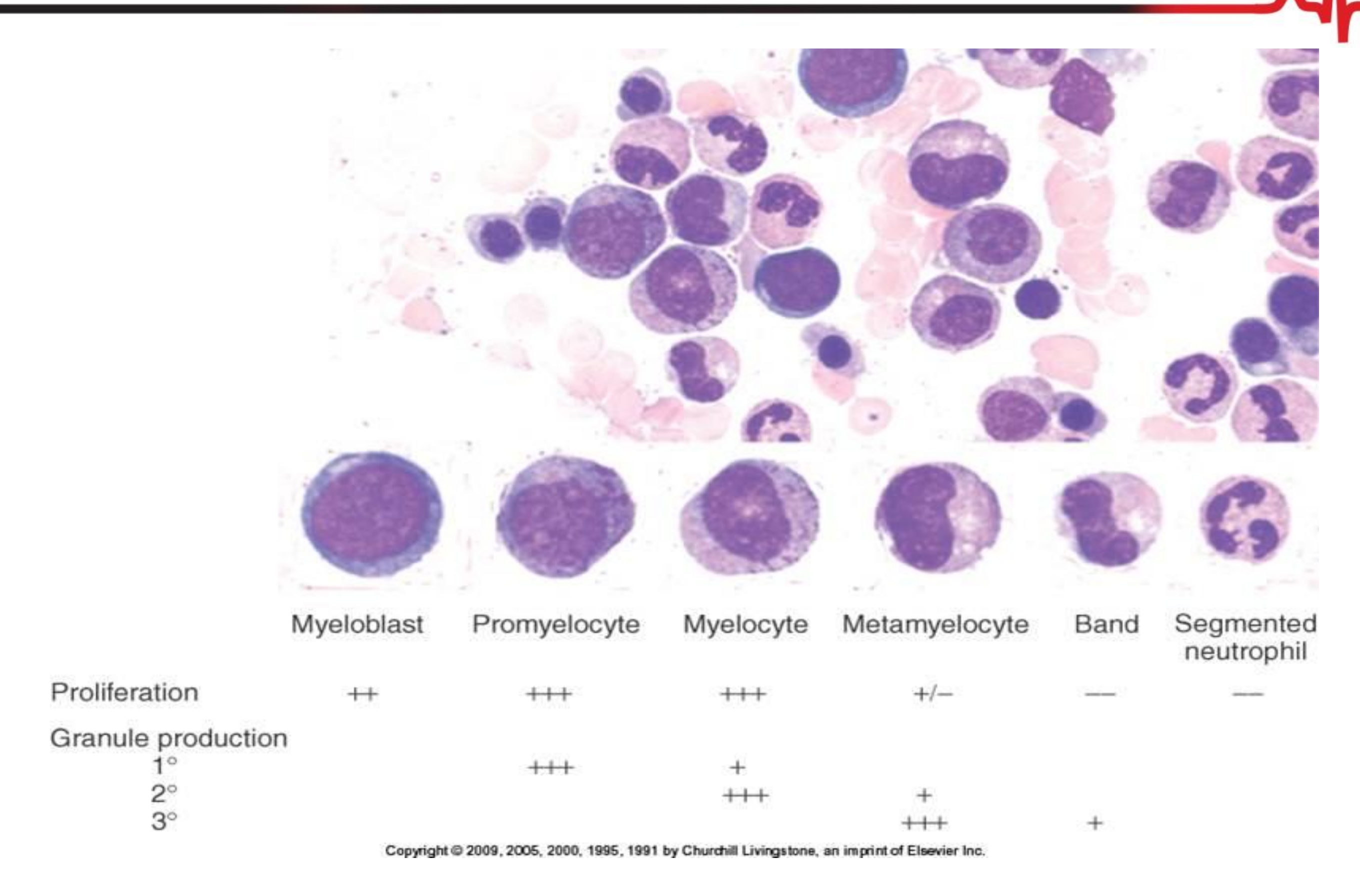
هناك عدد كبير من الفحوص أكثر فأكثر دقة في الدمويات. المهم هو استخدام هذه المفحوصات بشكل صحيح وبالتالي أن نعرف جيدا حدود قيمة هذه المفحوصات واستطباباتها.

Notes *_*

	الكريات الحمر	الكريات البيض	الصفيحات
كمية	ارتفاع (احمرار دم) أو نقص العدد(فقر دم).	ارتفاع (ابيضاض دم) أو نقص العدد.	نقص عددها "يتظاهر بنزوف" أو زيادة في عددها.
كيفية	العدد طبيعي لكنها لاتقوم بوظيفتها على أكمل وجه (مثل فقر الدم المنجلي أو التلاسيميا).	اعتلال بوظيفة هذه الكريات (كأن تصبح كسولة لا تهاجر من مكان لآخر).	قد يكون عددها طبيعي لكنها لا تقوم بعملها بشكل طبيعي مثل: Glanzmann's thrombasthenia.

- ❖ صيغة الكريات البيض تسمح بتحديد كمية كل واحدة من السلالات
- ❖ يعطي تعداد الدم إذاً قيم نسبية متعلقة بحجم معين.
- ❖ عدد الكريات البيض لا علاقة له بالجنس لكن له علاقة بالعمر.
- ❖ الكريات الحمر والخضاب والهيماتوكرتيت لها علاقة بالجنس و العمر.
- ❖ لكن حجم الكرية و محتواها من الخضاب ليس له علاقة لا بالعمر ولا بالجنس.
- ❖ الشبكيات والصفيحات ليس لها علاقة بالعمر او الجنس.
- ❖ يجب التأكيد في القيم على مجالات وليس قيمة مفردة لتحديد النقص أو الزيادة.
- ❖ تعداد الدم هو إجراء ضروري يتم من خلاله عرض كمية الخلايا الدموية بالمقارنة مع مجالاتها الطبيعة والمقترنة بالأعمار والجنس، أما اللطاخة فنلجأ إليها في حال وجود أي خلل في تعداد حتى نتأكد من سببه ووجوده.

يرجى التأكيد على جميع الملاحظات التي وردت ضمن المحاضرة



	Myeloblast	Promyelocyte	Myelocyte	Metamyelocyte	Band	Segmented neutrophil
Proliferation	++	+++	+++	+/−	—	—
Granule production						
1°		+++	+			
2°			+++	+		
3°				+++	+	

هي الصورة وعدناكم فيها بالصفحة 8



إلى هنا نودعكم على أمل اللقاء في
محاضرة جديدة
نتمنى أن تكون قد نالت إعجابكم
وكانت عوناً لكم . ^_^